

Б.А. Самура, Е.П. Матвийчук

**ВЛИЯНИЕ БЕНОФИЛЛИНА НА ФУНКЦИЮ ПОЧЕК ПРИ ВОДНОЙ НАГРУЗКЕ В ДЛИТЕЛЬНОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина

*В результате фармакологических исследований диуретической активности 48 впервые синтезированных производных теофиллина было выделено вещество, обладающее наибольшей диуретической активностью с условным названием «бенофиллин». Установлено, что бенофиллин в дозе 35 мг/кг в условиях спонтанного диуреза при длительном применении (в течение 7 дней, стимулирует фильтрационную функцию почек, способствует выведению с мочой ионов натрия и в меньшей степени – ионов калия. В первый день после отмены бенофиллина его влияние на почки еще сохраняется, а со вторых суток указанные показатели существенно не отличаются от данных контроля. Исследовано также влияние курсового введения бенофиллина на содержание в плазме крови эндогенного креатинина, натрия, калия, скорость клубочковой фильтрации (СКФ) и выделительную функцию почек у крыс в условиях водной нагрузки. При длительном введении (в течение 14 дней) бенофиллин у крыс вызывал выраженные диуретический и натрийуретический эффекты, уменьшал реабсорбцию воды, повышал фильтрационный заряд и реабсорбцию натрия в проксимальных и дистальных канальцах почек и улучшал фильтрационную функцию почек. Увеличение СКФ в пределах от 74,8% до 101,8% свидетельствует об улучшении ренальной функции почек у крыс в течение проведения длительного эксперимента.*

**Ключевые слова:** бенофиллин, спонтанный диурез, натрий, калий, креатинин, скорость клубочковой фильтрации.

**ВВЕДЕНИЕ**

Начало XXI века характеризуется ростом заболеваний сердечно-сосудистой системы среди взрослого населения Украины [1]. Для лечения артериальной гипертензии (АГ) легкой и средней тяжести используют также и диуретики. Арсенал диуретиков на современном фармацевтическом рынке достаточно широк [2]. Среди них есть средства растительного происхождения, а также синтетические средства разных химических групп [3]. В последние годы были проведены многочисленные многоцентровые исследования, посвященные изучению терапевтических свойств диуретиков при лечении пациентов с АГ [4].

Установлено, что диуретики (гидрохлортиазид, этакриновая кислота, фуросемид и др.) в высоких дозах обуславливают салуретический эффект и вызывают уменьшение объема циркулирующей крови за счет их диуретической активности. Механизм действия диуретиков сложный и многогранный и связан с торможением реабсорбции ионов натрия в канальцах нефрона, увеличением содержания простагландинов ПГЕ<sub>2</sub>, активности калий-креин-кининовой системы, которые улуч-

шают почечный кровоток и увеличивают экскрецию ионов натрия и воды [5, 6]. Механизм антигипертензивного действия диуретиков обусловлен снижением чувствительности сосудов к катехоламинам, а ряд побочных эффектов (гипокалиемия [7], гипомagneмия, гипергликемия, нарушение обмена липидов [8, 9], связанные с активацией симпатической и ренин-ангиотензиновой систем) уменьшают клиническую ценность диуретиков [10–12]. Учитывая вышеприведенное, поиск фармакологических веществ, которые улучшают функцию почек и сердечно-сосудистой системы, является актуальным.

На этапе проведения фармакологического скрининга для доклинического исследования было отобрано соединение 14-7-п-метилбензил-8-п-бромобензилденгидразинотеофиллин (условное рабочее название вещества «бенофиллин»), которое проявило выраженное стимулирующее влияние на функцию почек у крыс. Диуретическое действие бенофиллина превышает мочегонный эффект гидрохлортиазида.

Целью данного исследования было изучение влияния бенофиллина на деятельность почек у крыс при длительном эксперименте.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучение диуретической активности бенофиллина проведено по методу Е.Б. Берхина [13]. На этапе адаптационного периода проводили отбор животных с учетом колебаний суточного диуреза. Экспериментальных животных содержали на стандартном рационе в условиях вивария Национального фармацевтического университета согласно санитарно-гигиеническим нормам. При проведении экспериментальных исследований животные находились в стандартных условиях согласно с нормами и принципами Директивы Совета ЕС по вопросам защиты позвоночных животных, которых используют для экспериментальных и других научных целей.

Проведено исследование влияния бенофиллина на суточное потребление воды, диурез, экскрецию электролитов (натрия и калия) и креатинина с мочой у белых крыс линии Вистар массой 180–200 г. Эксперименты были проведены на 2 группах крыс по 7 животных в группе: первая группа (опытная), которой однократно внутрижелудочно вводили бенофиллин в дозе 35 мг/кг ( $ЭД_{50}$ ) и воду (в объеме 3% от массы тела). Крысам 2-й контрольной группы вводили внутрижелудочно только воду (в объеме 3% от массы тела). После длительного введения (в течение семи дней) бенофиллина, за животными наблюдали еще в течение 3 дней. В следующих опытах на белых крысах линии Вистар массой 180–200 г в условиях водной нагрузки было исследовано влияние курсового введения бенофиллина на содержание в плазме крови эндогенного креатинина, натрия, калия, СКФ, реабсорбцию воды и натрия, фильтрационный заряд и выделительную функцию почек. Содержание электролитов определяли с помощью метода пламенной фотометрии, а количество выделенного креатинина методом Фолина [14]. Крыс содержали в индивидуальных обменных клетках при свободном доступе к пище и воде. Наблюдение проводили в течение 14 дней на фоне ежедневного одноразового внутрижелудочного введения бенофиллина в дозе 35 мг/кг и еще в течение 3 дней после прекращения введения. Полученные данные были обработаны методами непараметрической статистики с использованием  $t$ -критерия Стьюдента [15].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полученных результатов (табли-

ца 1) показывает, что при однократном введении бенофиллин стимулирует экскреторную функцию почек и увеличивает диурез у крыс в пределах от 121,1% до 148,1% ( $p < 0,05$ ), а также повышает выведение эндогенного креатинина с мочой в диапазоне от 3,8% до 23,5% ( $p < 0,05$ ), что может свидетельствовать об улучшении фильтрационной функции почек. Следует отметить, что салуретический эффект бенофиллина проявлялся увеличением экскреции натрия с мочой в пределах от 10,8% до 31,6% ( $p < 0,05$ ) и калия – от 2,6% до 12,9%, что свидетельствует об уменьшении реабсорбции натрия в проксимальных и дистальных канальцах нефронов.

При длительном внутрижелудочном введении проведено углубленное изучение влияния бенофиллина на содержание эндогенного креатинина, скорость клубочковой фильтрации (СКФ), экскрецию ионов натрия и калия в плазме крови и выделительную функцию почек крыс в условиях водной нагрузки (таблица 2).

При проведении исследований в условиях водной нагрузки выявляли способность препаратов к экстренной регуляции гомеостатических параметров. После внутрижелудочного введения бенофиллина в дозе 35 мг/кг в условиях объемной стимуляции (введение в желудок водопроводной воды в объеме 3% от массы тела), бенофиллин проявлял выраженный диуретический эффект (выделительная функция почек усилилась в пределах от 99,4%,  $p < 0,05$  до 163,1%,  $p < 0,05$ ), экскреция мочи возросла с  $3,14 \pm 0,12$  мл/100 г (исходное состояние) до  $7,96 \pm 0,28$  мл/100 г ( $p < 0,05$ ) на 9-ые сутки при длительном введении. Бенофиллин в плазме крови способствовал выраженному увеличению синтеза эндогенного креатинина в длительном эксперименте в пределах от 5,4% до 39,7% ( $p < 0,05$ ). Следует отметить, что под влиянием бенофиллина в плазме крови выявлено уменьшение содержания ионов натрия до 13,4% на 9-ые сутки эксперимента, а также наблюдалась тенденция к уменьшению содержания ионов калия до 6,9% ( $p > 0,05$ ). На основании полученных результатов исследования влияния курсового введения бенофиллина на выделительную функцию почек крыс в условиях водной нагрузки рассчитывали СКФ. Под действием бенофиллина зарегистрировано увеличение СКФ в пределах от 74,8%  $p < 0,05$  до 101,8% ( $p < 0,05$ ), что свидетельствовало об улучшении функции почек у крыс в течение длительного эксперимента.

Таблица 1 – Влияние бенофиллина на экскреторную функцию почек у крыс при длительном внутрижелудочном введении ( $M \pm m$ ,  $n=7$ )

Дни наблюдения	Условия опыта	Количество выпитой воды, мл	Диурез, мл	Экскреция с мочой		
				креатинин, мкмоль	натрий, мкмоль	калий, мкмоль
Исходный уровень	бенофиллин	19,8±0,93	5,2±0,21	2,60±0,07	125,2±1,21	23,2±0,1
	контроль	20,6±1,1	5,0±0,18	2,60±0,06	124,6±1,17	23,2±0,3
1-ые сутки	бенофиллин	21,4±1,04	11,5±0,23**	2,70±0,09	138,7±1,12*	23,8±0,1
	контроль	20,5±1,12	5,0±0,14	2,61±0,05	125,3±1,18	23,5±0,2
3-и сутки	бенофиллин	22,1±0,91	11,9±0,32**	3,08±0,11*	145,8±1,26*	24,2±0,3
	контроль	20,7±1,20	5,1±0,12	2,62±0,06	124,8±1,11	23,1±0,1
5-ые сутки	бенофиллин	22,0±0,82	12,0±0,23**	3,12±0,16*	152,0±1,19*	25,1±0,2
	контроль	20,6±1,08	5,0±0,19	2,59±0,12	124,9±1,24	22,9±0,1
7-ые сутки	бенофиллин	21,8±1,11	12,6±0,52**	3,2±0,18*	163,5±1,35*	26,2±0,4
	контроль	20,1±1,09	4,9±0,24	2,60±0,12	125,3±1,17	22,8±0,2
9-ые сутки	бенофиллин	21,5±1,14	12,9±0,33**	3,21±0,17*	164,3±1,34*	24,9±0,3
	контроль	20,6±1,22	5,0±0,12	2,61±0,09	125,7±1,29	22,3±0,2
11-ые сутки	бенофиллин	22,1±1,24	12,9±0,34**	3,2±0,14*	164,8±1,34*	25,3±0,3
	контроль	20,2±1,12	5,1±0,19	2,61±0,12	123,9±1,26	22,7±0,2
14-ые сутки	бенофиллин	23,1±0,86	12,9±0,41**	3,18±0,18*	165,1±1,32*	25,2±0,1
	контроль	20,2±0,94	5,1±0,16	2,61±0,08	125,9±1,12	22,8±0,1
После отмены введения бенофиллина						
1-ые сутки	опыт	21,7±1,2	9,4±0,32**	3,0±0,12	146,3±1,14	24,9±0,1
	контроль	20,3±1,1	4,98±0,18	2,62±0,11	124,8±1,21	22,5±0,2
2-ые сутки	опыт	21,5±1,3	6,7±0,32	2,93±0,13	134,1±1,21	23,7±0,1
	контроль	20,9±0,94	5,0±0,11	2,64±0,14	126,1±1,13	22,4±0,2
3-и сутки	опыт	21,2±0,98	5,9±0,34	2,72±0,17	125,2±1,41	22,9±0,2
	контроль	20,6±0,96	5,1±0,12	2,60±0,12	125,7±1,21	22,3±0,1

Примечания: 1. \*  $p < 0,05$  по сравнению с контролем; 2. \*\*  $p < 0,01$  по сравнению с контролем; 3. n – количество животных в группе.

Таблица 2 – Влияние курсового введения бенофиллина на содержание в плазме эндогенного креатинина, натрия, калия, СКФ и выделительную функцию почек крыс в условиях водной нагрузки ( $M \pm m$ ,  $n=7$ )

Сутки	Диурез, мл/100 г	Плазма			СКФ мл/мин на 100 г
		Креатинин, мкМ	Натрий, мМ	Калий, мМ	
Контроль					
Исходное состояние	3,14±0,12	38,12±0,15	134,6±0,54	5,2±0,12	0,218±0,012
5-ые сутки	3,09±0,09	37,8±0,21	134,4±0,43	5,17±0,04	0,216±0,011
9-ые сутки	3,12±0,08	37,4±0,49	133,24±0,54	5,18±0,11	0,224±0,013
14-ые сутки	3,11±0,15	37,8±0,24	134,7±0,72	5,26±0,12	0,220±0,008
Бенофиллин, 35 мг/кг					
Исходное состояние	3,26±0,21	40,17±0,11	135,3±0,54	4,98±0,05	0,381±0,011
5-ые сутки	7,64±0,31	50,13±0,17*	116,27±0,43	4,89±0,06	0,443±0,023
9-ые сутки	8,26±0,28	52,25±0,23*	115,38±0,72	4,82±0,07	0,452±0,032
14-ые сутки	7,84±0,31	51,94±0,34*	117,12±0,54	4,83±0,08	0,440±0,024
После отмены введения бенофиллина					
3-и сутки	5,27±0,24	39,58±0,27	134,72±0,62	4,92±0,05	0,365±0,027

Примечания: 1. Достоверные отличия с контролем – \*  $p < 0,05$ ; 2. n – количество животных в группе.

По результатам проведенных исследований (таблица 3) влияния бенофиллина на выделительную функцию почек рассчиты-

вали реабсорбцию воды, фильтрационный заряд натрия, реабсорбцию натрия и экскрецию эндогенного креатинина.

Таблица 3 – Влияние курсового введения бенофиллина на реабсорбцию воды, фильтрационный заряд, реабсорбцию натрия, экскрецию креатинина и выделительную функцию почек у крыс при длительном введении в условиях водной нагрузки ( $M \pm m$ ,  $n=7$ )

Дни наблюдения	Диурез, мл/100 г	Реабсорбция воды, %	Фильтрационный заряд $Na^+$ , мкМ/мин	Реабсорбция $Na^+$ , %	Экскреция креатинина, мМ на 100 г
Контроль					
Исходный уровень	3,14 $\pm$ 0,12	95,0 $\pm$ 0,12	28,24 $\pm$ 1,42	95,46 $\pm$ 0,14	8,12 $\pm$ 0,57
5-ые сутки	3,09 $\pm$ 0,09	94,8 $\pm$ 0,17	28,35 $\pm$ 1,35	95,17 $\pm$ 0,23	8,06 $\pm$ 0,41
9-ые сутки	3,12 $\pm$ 0,08	94,7 $\pm$ 0,21	30,27 $\pm$ 1,24	95,46 $\pm$ 0,27	8,22 $\pm$ 0,32
14-ые сутки	3,11 $\pm$ 0,15	94,6 $\pm$ 0,12	30,16 $\pm$ 1,41	95,24 $\pm$ 0,18	8,18 $\pm$ 0,33
Бенофиллин, 35 мг/кг					
Исходный уровень	6,26 $\pm$ 0,21	94,4 $\pm$ 0,17	60,42 $\pm$ 1,12*	93,14 $\pm$ 0,12	18,16 $\pm$ 0,26*
5-ые сутки	7,44 $\pm$ 0,31	93,2 $\pm$ 0,29	53,26 $\pm$ 2,18*	91,13 $\pm$ 0,41	20,36 $\pm$ 1,04*
9-ые сутки	7,96 $\pm$ 0,28	93,1 $\pm$ 0,15	53,18 $\pm$ 3,26*	90,74 $\pm$ 0,28	21,04 $\pm$ 1,63*
14-ые сутки	7,84 $\pm$ 0,31	93,0 $\pm$ 0,21	51,37 $\pm$ 3,14*	90,65 $\pm$ 0,21	21,10 $\pm$ 1,07*
После отмены бенофиллина					
3-и сутки	3,27 $\pm$ 0,24	94,89 $\pm$ 0,11	30,31 $\pm$ 2,61	95,28 $\pm$ 0,12	14,23 $\pm$ 0,42

Примечания: 1. Достоверные отличия с контролем – \*  $p < 0,05$ ; 2. n – количество животных в группе.

На 14-ые сутки наблюдали уменьшение реабсорбции воды в исходном состоянии при курсовом внутрижелудочном введении бенофиллина с 93,1% до 90,6%, что свидетельствовало об увеличении объема мочеиспускания, а не о долгосрочных метаболических изменениях. Кроме того, наблюдали увеличение фильтрационного заряда натрия в пределах от 28,2 мкМ/мин в исходном состоянии у интактных крыс до 60,4 мкМ/мин у крыс под влиянием бенофиллина, а потом он уменьшался до 51,37 мкМ/мин на 14-ые сутки. Уменьшение реабсорбции натрия в проксимальных и дистальных канальцах нефронов наблюдали у опытных крыс с 93,1% в исходном состоянии до 90,6% на 14-ые сутки при курсовом применении бенофиллина. Увеличение экскреции креатинина при внутрижелудочном введении бенофиллина оказалось во всех сериях опытов, что свидетельствует об улучшении фильтрационной функции почек у крыс. После прекращения введения бенофиллина наблюдали уменьшение диуреза, что свидетельствует об угнетении фильтрационной функции почек и экскреции электролитов, а через 2-е суток после прекращения введения бенофиллина диурез и уровень экскреции креатинина, ионов натрия и калия нормализовались до исходных величин. Выраженный диуретический эффект бенофиллина может быть связан с угнетением активного транспорта натрия в канальцах нефрона и увеличением его экскреции с мочой. Таким образом, бенофиллин при длительном введении у крыс

обнаружил выраженный диуретический и натрийуретический эффекты, уменьшал реабсорбцию воды, повышал фильтрационный заряд и реабсорбцию ионов натрия в проксимальных и дистальных канальцах почек и улучшал фильтрационную функцию почек.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В условиях спонтанного диуреза бенофиллин способствовал выраженному увеличению мочеотделения, экскреции с мочой креатинина, ионов натрия и калия. При длительном применении бенофиллин способствовал выраженному увеличению диуреза, СКФ, синтеза эндогенного креатинина, уменьшал реабсорбцию воды и натрия, улучшал фильтрационную функцию почек. Бенофиллин является перспективным фармакологическим веществом для дальнейшего исследования специфической активности и безопасности с целью создания на его основе нового диуретического средства.

## SUMMARY

B.A. Samura, E.P. Matviychuk  
THE EFFECT OF BENOPHYLLINE  
ON RENAL ACTIVITY AND WATER  
RETENTION: EXPERIMENTAL RESULTS

It was established that benophylline at a dose of 35 mg/kg in terms of spontaneous diuresis after prolonged use (within 7 days) stimulates the filtering function of the kid-

neys, promotes the excretion of sodium ions and to a lesser extent – potassium ions. In the first day after withdrawal of benophylline, its effect on the kidneys still remains, and beginning with the second day specified values were not significantly different from controls. The impact of the course introduction of benophylline on the content of endogenous creatinine, sodium, potassium in the blood plasma, on glomerular filtration rate (GFR), and on renal excretory function of rats under conditions of water stress was investigated. During prolonged introduction (within 14 days) to rats, benophylline caused marked diuretic and natriuretic effects, reduced water reabsorption, increased filtration charge and the reabsorption of sodium in the proximal and distal tubules of the kidney filtration and improved renal function. The increase in GFR was in the range of 74,8% to 101,8%. This indicates an improvement of renal activity in the rats' kidneys during prolonged experiments.

Keywords: benophylline, spontaneous diuresis, sodium, potassium, creatinine, glomerular filtration rate.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Глезер, Г.А. Диуретики: руководство для врачей / Г.А. Глезер. – М.: Интербукбизнес, 1993. – 352 с.
2. Машковский, М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – [15-е изд., перераб., испр. и доп.]. – М.: РИА «Новая волна», 2008. – 1206 с.
3. Рациональная фармакотерапия сердечно-сосудистых заболеваний: Рук. для практикующих врачей / Е.И. Чазов [и др.]; под общ. ред Е.И. Чазова – М.: Литтера, 2005. – 972 с.
4. Несукай, Е.Г. Применение петлевых диуретиков в лечении сердечной недостаточности / Е.Г. Несукай // Терапія. Український медичний вісник. – 2013. – №1 (76). – С. 44 – 46.
5. Шейман, Д.А. Патофизиология почки / Д.А. Шейман. – Пер. с англ. 2-е изд., испр. – М. – СПб.: «Издательство БИНОМ» – «Невский Диалект», 1999. – 206 с.
6. Наточин, Ю.В. Клиническая и молекулярная физиология осморегулирующей функции почек (К 200-летию со дня рождения Ф.Г.Я. Генле) / Ю.В. Наточин // Клиническая нефрология. – 2009. – № 4. – С. 25 – 31.
7. Assadi, F. Diagnosis of hypokalemia: a problem-solving approach to clinical cases. / F. Assadi, // J.Iran Kidney Dis. 2008. – Jul. 2(3). – P. 115 – 122.
8. Castrop, H. Modulation of adenosine receptor expression in the proximal tubule: a novel adaptive mechanism to regulate renal salt and water metabolism // H. Castrop, Am. J. Physiol. Renal. Physiol. – 2008. – Vol. 295, № 1. – P. 35 – 36.
9. Pentoxifylline improves circulatory and metabolic recovery after cardiopulmonary resuscitation / L. Bahlmann [et al.] // Resuscitation. – 2000. – Vol. 47, № 1. – P.191 – 194.
10. Брюханов, В.М. Побочные эффекты современных диуретиков / В.М. Брюханов, Я.Ф. Зверев. – Новосибирск, 2000. – 242 с.
11. Побочное действие лекарств / С.М. Дроговоз [та ін.] // Х.: «СИМ», 2010. – 480 с.
12. Штрыголь, С.Ю. Побочное действие диуретиков // Провизор. – 2003. – № 19. – С. 30 – 33.
13. Берхин, Е.Б. Методы изучения действия новых химических соединений на функцию почек / Е.Б. Берхин // Хим. фарм. журн. – 1977. – Т. 11, № 5. – С. 3 – 11.
14. Доклінічні дослідження лікарських засобів. / За ред. О.В. Стефанова. – К.: Видавничий дім «Авіцена», 2001. – 528 с.
15. Лапач, С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич – К.: Морион, 2000. – 320 с.

### Адрес для корреспонденции:

61168, Украина,  
г. Харьков, ул. Блюхера, 4,  
Национальный фармацевтический  
университет,  
кафедра фармакотерапии,  
эл. почта: matviychuklena@ukr.net,  
Самура Б.А.

Поступила 30.06.2014 г.